

Muscle gene injection needle with electrode



Publication number: CN1345607

Publication date: 2002-04-24

Inventor: SHI YUENIAN (CN); FANG YUHU (CN); LIN CHAJIN (CN)

Applicant: HANGZHOU TAISHI BIOLOG SCIENCE (CN)

Classification:

- **International:** A61M5/00; A61M5/32; A61M5/00; A61M5/32; (IPC1-7): A61M5/32; A61M5/00

- **European:**

Application number: CN20001031702 20000930

Priority number(s): CN20001031702 20000930

Abstract of CN1345607

The intramuscular gene injection needle with the electroporation function is formed from two portion of injection needle bracket with electrode needles and gene injector. The injection needle and two electrode needles are positioned on a straight line, and identical in vertically-injected depth in muscle. After the DNA injection is completed, the injection needle is back-resiled, and the electroporation is made so as to make the DNA injected into muscle transfer into muscular cell, and can improve gene transfection efficiency.

Data supplied from the esp@cenet database - Worldwide

[19] 中华人民共和国国家知识产权局

[51] Int. Cl⁷

A61M 5/32

A61M 5/00

[12] 发明专利申请公开说明书

[21] 申请号 00131702.4

[43] 公开日 2002 年 4 月 24 日

[11] 公开号 CN 1345607A

[22] 申请日 2000.9.30 [21] 申请号 00131702.4

[71] 申请人 杭州泰士生物科技有限公司

地址 310013 浙江省杭州市龙井路中国茶叶博物馆 3 号楼

[72] 发明人 史跃年 方育沪 林察金

[74] 专利代理机构 上海智信专利代理有限公司

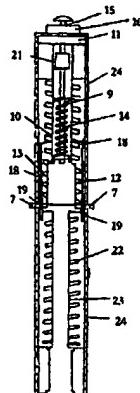
代理人 费开达

权利要求书 1 页 说明书 5 页 附图页数 2 页

[54] 发明名称 带电极的肌内基因注射针装置

[57] 摘要

本发明提供一种带电穿孔功能的肌内基因注射针装置，它是由带有电极针的注射针架(1)及基因注射器(1')两部分组成。它使注射针和两支电极针三支针处于一直线上，且插入肌肉的垂直深度相同。DNA 注射完毕后，注射针回弹，进行电穿孔，使注入肌肉的 DNA 转移入肌肉细胞内，改善了基因转染效率。



I S S N 1 0 0 8 - 4 2 7 4

权利要求书

1、一种基因治疗针装置，其特征在于该装置由带有电极针的注射针架（1）及基因注射器（1'）两部分组成。

2、根据权利要求 1 所述基因治疗针装置，其特征在于所述的带有电极针的注射针架（1），其电极针固定在框架（5）上，该框架中央有一形的针孔，可插入注射针的针头及部分针筒，电极针的末端有一对插头（4）与电穿孔器上的电极线相连，二针（单元）由一个上大下小的圆柱形结构和上下二块圆形平板构成的框架支撑。

3、根据权利要求 1 所述基因治疗针装置，其特征在于所述的基因注射器（1'）由上圆筒（24）和下二个半圆筒（24'）组成，圆筒外壳（24）半圆筒结合处设有拉杆（7），拉杆移动轨道为倒 J 形，二轨道之间有拉杆按钮（8），拉杆（7）连有弹簧（13）和内筒（12），外壳顶盖连有内筒（10），内筒（10）内有小弹簧（9）、活塞杆（14），活塞杆（14）的顶端与推动按钮（15）相接，推动按钮（15）顶部外围有半圆形推动按钮（16）上有弹簧球（17），按钮（17）下连二个推杆（18），推杆（18）另一端固定在杠杆（19）上，杠杆（19）固定在圆筒外壳（24）上，另一端与拉杆（7）相邻，外壳（24）后部有长方形孔（20），上部设电源开关（21），二个半圆筒（24'）下部各有半圆环状分隔，二半圆环合并，中间有与带有电极针的注射针架相匹配的孔，分隔上部空腔中有弹簧（22）和内筒（23）。

4、根据权利要求 1 所述基因治疗针装置，其特征在于两支电极针与注射针（3）三支针处于一直线上，插入肌肉后，三支针的针尖在垂直深度相同的一直线（H 线）上。

5、根据权利要求 1 所述基因治疗针装置，其特征在于将 DNA 注射完毕后，注射针（3）回弹。

00·10·09

说 明 书

带电极的肌内基因注射针装置

本发明涉及一种基因治疗的注射针装置，尤指一种带电极的肌肉内注射针，再具体地说用于电穿孔法介导的肌肉内注射基因治疗。

将有医疗用途的基因或治疗物转移入肌肉内，这在基因治疗以及各种临床应用中具有重要意义，在各种体内非病毒载体介导的基因转移法中，把质粒 DNA 直接注射入肌肉是一种简单、价廉和安全的方法。虽然转染的 DNA 通常不整合入染色体，但是肌纤维的稳定有利于转染基因的稳定表达。将异体基因转移入骨骼肌细胞已显示能在血液循环中持续产生蛋白。将白介素-5 表达质粒注射入肌肉能使肌肉内产生白介素-5，表达量足以诱导骨髓内嗜酸性粒细胞显著增殖以及嗜酸性粒细胞浸润各种器官。仅在成年小鼠肌肉内注射一次促红细胞生成素 (erythropoietin, EPO) 表达质粒，即引起血清 EPO 水平的生理性升高以及血球容积的增加。最近，有实验表明，将血管生成抑制剂 endostatin 的分泌型表达质粒肌肉注射，能使 endostatin 持续表达和分泌入血液循环并对肿瘤的生长和转移产生系统抑制作用。这些结果提示肌肉注射 DNA，对系统转移细胞因子、生长调节素以及其他血清蛋白是一种有用的方法。但是这种方法尚未被应用于人类基因治疗。

基因肌内转移方法的主要障碍之一，是被转染的基因表达水平相对较低。对各种 DNA 肌肉注射法中影响基因转染有效性的条件进行分析比较，包括表达质粒注射入再生肌肉以及表达质粒与合成聚合物混合注射，其中电穿孔法在 DNA 肌肉注射中改善基因转染效率方面已获得了一些激动人心的结果。电穿孔法在体外转移 DNA 进入各种类型的细胞方面已被广泛使用，体内电穿孔法基因转移在转移 DNA 进入小鼠皮肤、鸡胚、

大鼠肝脏以及鼠黑色素瘤中显示有效。Aihara H 等最近检测了体内白介素-5 基因通过电穿孔法转移入肌肉的有效性，质粒注射后电击能增加血清白介素-5 水平，与仅仅肌肉质粒注射相比增加了 10 倍。

在电穿孔法介导的肌肉内基因转移法中最重要的技术之一是在注射质粒 DNA 的相同区域精确地进行电击。按照现有的操作过程，需先注射 DNA 质粒然后插入一对电极，很难做到在与 DNA 注射相同的肌肉部位以及相同的肌肉深度插入电极，如果没有在相同肌肉区域进行电击，先前注射的质粒 DNA 将不会有效转移入肌肉细胞。

本发明目的是提供一种新型的 DNA 转移注射针装置，可以在注射质粒 DNA 的同一肌肉部位采用电穿孔法。

一种基因治疗针装置，其特点在于该装置由带电极针的注射针架和基因注射器两大部分组成；电极针固定在框架上，该框架中央有一  形的针孔，可插入基因注射针的针头及部分针筒，电极针的末端有一对插头与电穿孔器上的电极线相连，二针（单元）由一个上大下小的圆柱形结构和上下二块圆形平板构成的框架支撑；所述基因注射器由上圆筒和下二个半圆筒组成，圆筒半圆筒结合处设有拉杆，拉杆移动轨道为倒 J 形，二轨道之间有拉杆按钮，拉杆连有弹簧和内筒，外壳后顶连有内筒，内筒内有小弹簧活塞杆，活塞杆的顶端与推动按钮相接，推动按钮顶部外圈有半圆形推动按钮上有弹簧球，按钮下连二个推杆，推杆另一端固定在杠杆上，杠杆固定在圆筒外壳上，另一端与拉杆相邻，外壳后部有长方形孔，上部设电源开关，二个半圆筒下部各有半圆环状分隔，二半圆环合并，中间有与带有电极针的注射针架相匹配的孔，分隔上部空腔中有弹簧和内筒。两支电极针与基因注射针三支针的针尖在一直线上，插入肌肉后三支针垂直深度相同；DNA 注射完毕后，注射针回弹，在给电场（电穿孔）时，注射针不在肌肉内，不会影响电场。

本发明有如下优点：

(1) 可以将二支电极针、注射针共三支针同时插进肌肉，三支针的针尖在一直线上，插入肌肉后三支针垂直深度相同，将 DNA 注射入肌肉，注射针回弹，进行电穿孔，使注入肌肉的 DNA 转移入肌肉细胞内，克服了现有的操作过程，先注射 DNA 质粒，然后插入一对电极，很难做到在与 DNA 注射相同的肌肉部位以及相同的肌肉深度插入电极，如果没有在相同肌肉区域进行电击，先前注射的质粒 DNA 将不会有效转移入肌肉细胞。

(2) 由于采用本发明的基因注射针装置能顺利利用电穿孔法使其在 DNA 肌肉注射中改善基因转染效率。

(3) 本发明质粒注射后电击能使注入肌肉的 DNA 转移入肌肉细胞内。

下面结合附图作一说明

图中编号说明：

1 — 带电极针的注射针架	1' — 基因注射器
2 — 一对电极针	3 — 注射针
4 — 一对插座	5 — 框架
6 — 线表示垂直深度	7 — 拉杆
8 — 拉杆按钮	9 — 弹簧
10 — 内筒	11 — 顶盖
12 — 圆筒	13 — 弹簧
14 — 活塞杆	15 — 推动按钮（塑料顶部）
16 — 半圆形按钮	17 — 弹簧球
18 — 推杆	19 — 杠杆
20 — 方形孔	21 — 电源开关
23 — 弹簧	23 — 内筒
24 — 圆筒外壳	24' — 二个半圆筒
24、24' — 一体。	

00-10-09

图 1 表示目前所用的注射针。

图 2 显示本发明所述的带电极的注射针架 (1) 的正视图。

图 3 显示本发明所述的带电极的注射针架 (1) 的俯视图。

图 4 显示本发明所述的带电极的注射针架 (1) 的横剖面图。

图 5 显示本发明所述的基因注射器 (1') 正视图。

图 6 显示本发明所述的基因注射器 (1') 侧视图。

从图 2、3、4 显示本发明所述的带电极针的注射针架，二支电极针 2 固定在一个有机玻璃框架 5 上，该框架中央有一  形针孔，可插入注射针 3 的针头和部分针筒，所有三支针的针尖处在一直线上且垂直深度相同 (H 线)，这使 DNA 转移和电穿孔在肌肉细胞的同一层面。在电极针的末端，有一对插座 4，与电穿孔器上的电极线相连。此二针单元由一个上大下小的圆柱形结构 (中间有  形孔) 和一块由二个圆形平板构成的有机玻璃框架支撑，包括有机玻璃框架 5 以及在框架 5 上的电极针。

图 5、6：

塑料外壳由圆筒外壳 24 和二个半圆筒合成的 24' 组成。24 与 24' 结合处设有拉杆 7，拉杆 7 移动轨道为倒 J 形，二轨道上端之间有拉杆按钮 8。拉杆 7 上 (由外向内) 连有弹簧 13 和内筒 12。外壳顶盖 11 上连有一塑料内筒 10，10 内有小弹簧 9、活塞杆 14，活塞杆 14 的塑料顶圈与推动按钮 15 相接。在推动按钮 15 顶部外围有半圆形推动按钮 16 (上有弹簧球 17)，按钮 17 下连二个推杆 18，推杆 18 另一端固定在杠杆 19 上，杠杆 19 固定在圆筒外壳 24 上，另一端与拉杆 7 相邻。外壳 24 后部有长方形孔 20，上部设电源开关 21。二个半圆筒 24' 下部各有半圆环分隔，二半圆环合并，中间有与带有电极针的注射针架相匹配的孔，分隔上部空腔中有弹簧 22 和塑料内筒 23。

实施例 1

图 2、3、4 显示本发明所述的带电极针的注射针架，二支电极针 2

固定在一个有机玻璃框架 5 上，该框架中央有一 形针孔，可插入注射针 3 的针头和部分针筒，所有三支针的针尖处在一直线上且垂直深度相同 (H 线)，这使 DNA 转移和电穿孔在肌肉细胞的同一层面。在电极针的末端，有一对插头 4，与电穿孔器上的电极线相连。此二针单元由一个上大下小的圆柱形结构（中间有 形孔）和一块由二个圆形平板构成的有机玻璃框架支撑，包括有机玻璃框架 5 以及在框架 5 上的电极针。

图 5、6 显示本发明所述的基因注射器，塑料外壳由圆筒外壳 24 和二个半圆筒合成的 24' 组成。24 与 24' 结合处设有拉杆 7，拉杆 7 移动轨道为倒丁形，二轨道上端之间有拉杆按钮 8。拉杆 7 上（由外向内）连有弹簧 13 和内筒 12。外壳顶盖 11 上连有一塑料内筒 10，10 内有小弹簧 9、活塞杆 14，活塞杆 14 的塑料顶圈与推动按钮 15 相接。在推动按钮 15 顶部外围有半圆形推动按钮 16（上有弹簧球 17），按钮 17 下连二个推杆 18，推杆 18 另一端固定在杠杆 19 上，杠杆 19 固定在圆筒外壳 24 上，另一端与拉杆 7 相邻。外壳 24 后部有长方形孔 20，上部设电源开关 21。二个半圆筒 24' 下部各有半圆环分隔，二半圆环合并，中间有与带有电极针的注射针架相匹配的孔，分隔上部空腔中有弹簧 22 和塑料内筒 23。

打开半圆筒 24'，上提拉杆 7，使之沿轨道上行转到稳态位置。在 24' 内放置已吸入 DNA，套上弹簧 22、并且插上电极针架 1 的注射针 3，盖上另一半圆筒 24'。把三支针对准注射部位，按拉杆按钮 8，使拉杆 7 滑出稳态位置下行，在弹簧 13 的推动下向前撞击注射针外针筒、针架，将三支针同时插进肌肉（所有三支针处于直线上且垂直深度相同）。再用姆指按下推动按钮 15，按钮 15 通过活塞杆 14 推动内针筒将 DNA 注射进肌肉。放开按钮 15，按推动按钮 16，使弹簧球 17 嵌入方孔 20 中，推杆 18 位置下移使杠杆 19 另一端位置上移，将拉杆 7 顶起。注射针 3 在弹簧 22 的作用下反弹回半圆筒 24' 中，而注射针架 1 在原位不动，按电源开关 21，进行电穿孔，使注入肌肉的 DNA 转移入肌肉细胞内。

00·10·09
说 明 书 附 图

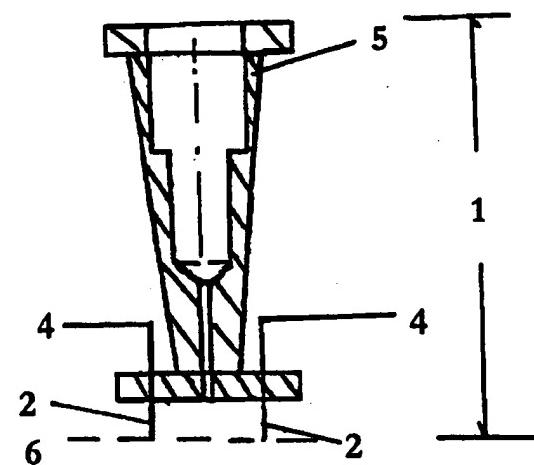
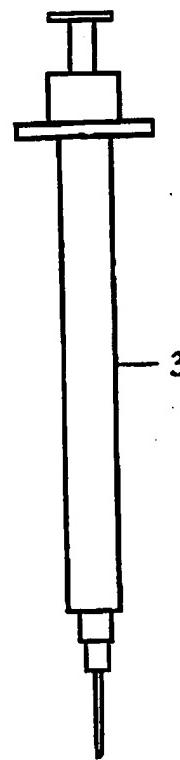


图1

图2

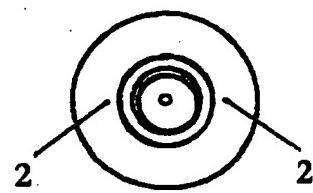


图3

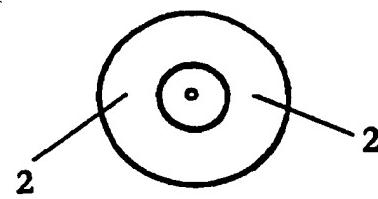


图4

00·10·09

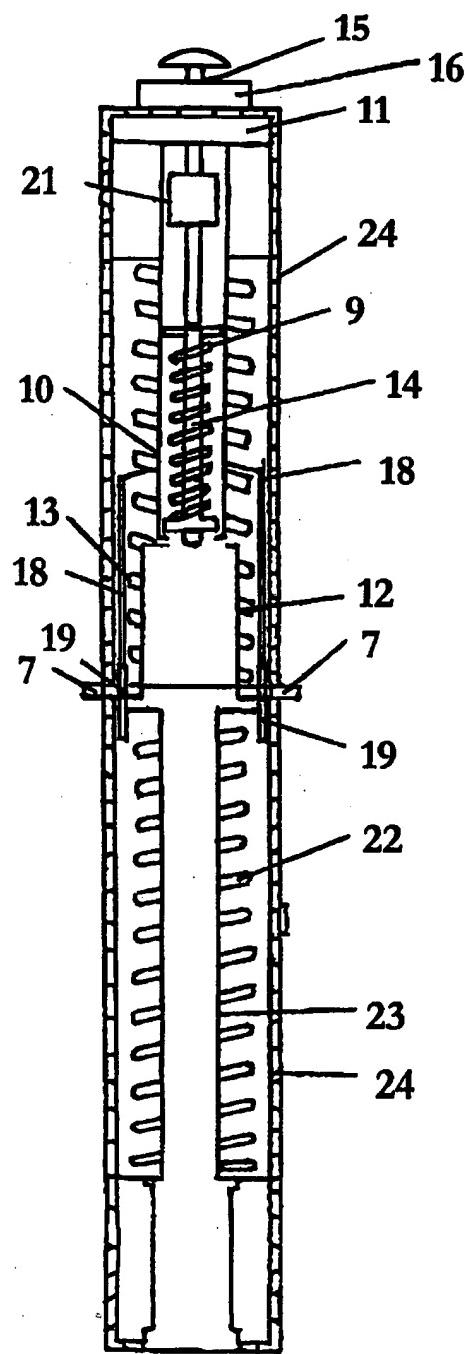


图5

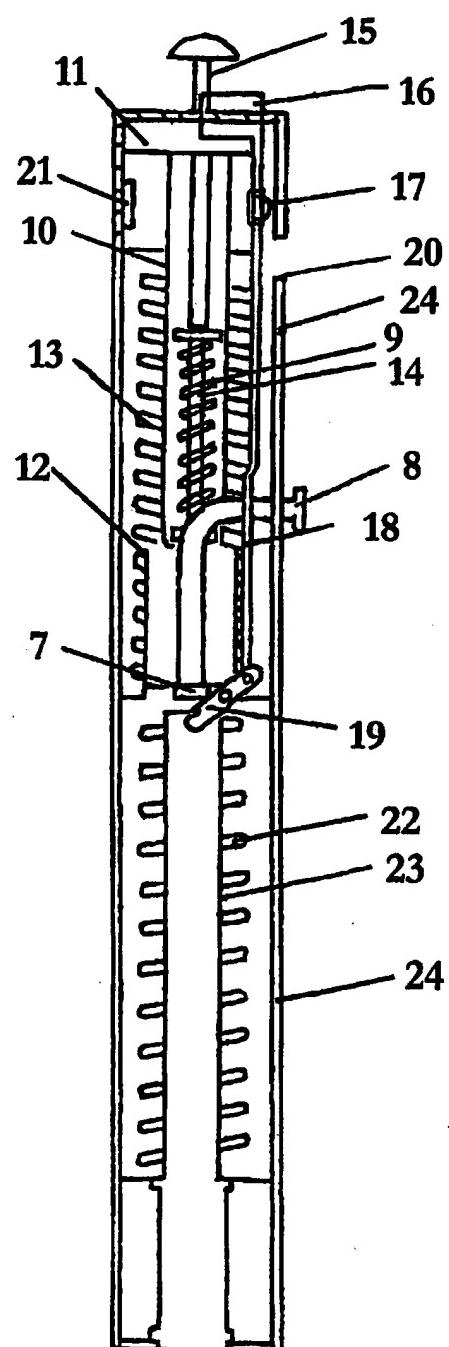


图6